

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



BF

(11)

EP 1 044 975 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
18.10.2000 Patentblatt 2000/42

(51) Int. Cl.⁷: **C07D 475/04**, A61K 31/519,
A61P 39/02

(21) Anmeldenummer: 00107623.1

(22) Anmeldetag: 08.04.2000

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 15.04.1999 CH 69599

(71) Anmelder:
**EPROVA Aktiengesellschaft
CH-8200 Schaffhausen (CH)**

(72) Erfinder:
• **Müller, Hans Rudolf**
8207 Schaffhausen (CH)
• **Egger, thomas**
8307 Effretikon (CH)
• **Moser, Rudolf**
8200 Schaffhausen (CH)

(54) **Stabile kristalline Salze von 5-Methyltetrahydrofolsäure**

(57) Die Erfindung betrifft stabile kristalline Salze der 5-Methyl-(6R,S)-, -(6S)- und -(6R)-tetrahydrofolsäure, Verfahren zur Herstellung dieser Salze sowie deren Verwendung als Bestandteil zur Herstellung von Arzneimitteln, als Nahrungsmittelergänzungstoff und Zubereitungen enthaltend diese Salze.

EP 1 044 975 A1

Beschreibung

- [0001]** Die Erfindung betrifft kristalline N-[4-[[[(2-amino-1,4,5,6,7,8-hexahydro-4-oxo-5-methyl-(6S)-, -(6R)- und -(6R,S)-pteridiny)]methyl]amino]benzoyl]-L-glutaminsäure-Salze (im folgenden 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze genannt), deren Verwendung sowie ein Verfahren zu deren Herstellung.
- [0002]** Verwendet werden Tetrahydrofolate vorwiegend als 5-Formyltetrahydrofolsäure und deren Salze (Leucovorin) oder 5-Methyltetrahydrofolsäure und deren Salz zur Behandlung von megaloblastischer Folsäure-Anämie, als Antidot zur Verstärkung der Verträglichkeit von Folsäure-Antagonisten, speziell von Aminopterin und Methotrexat in der Krebstherapie ("Antifolate rescue"), zur Verstärkung des therapeutischen Effektes von fluorierten Pyrimidinen und der Behandlung von Autoimmunkrankheiten wie Psoriasis und rheumatischer Arthritis, zur Verstärkung der Verträglichkeit von bestimmten Antiparasitika, etwa Trimethoprim-Sulfamethoxazol sowie zur Verminderung der Toxizität von Dideozyltetrahydrofolaten in der Chemotherapie. 5-Methyltetrahydrofolsäure wird speziell eingesetzt als Arzneimittel und als Nahrungsmittelergänzungstoff, Vitaminpräparat, zur Prävention von Neuralrohrdefekten, zur Behandlung von depressiven Erkrankungen und zur Beeinflussung des Homocysteinspiegels.
- [0003]** 5-Methyltetrahydrofolsäure und deren Salze sind extrem instabil, wobei insbesondere die hohe Oxidationsempfindlichkeit auffällt [siehe dazu auch A.L. Fitzhugh, Pteridines 4(4), 187-191 (1993)] und daher schwierig in einer für einen pharmazeutischen Wirkstoff oder Nahrungsmittelergänzungstoff akzeptablen Reinheit herzustellen.
- [0004]** Zur Überwindung der Instabilität der 5-Methyltetrahydrofolsäure wurden verschiedene Methoden wie ein möglichst vollständiger Sauerstoffausschluss oder die Zugabe von Oxidationsschutzmitteln wie Ascorbinsäure oder reduziertes L-Glutathion angewendet. Ein vollständiger Sauerstoffausschluss ist jedoch bei der Verwendung kaum, und wenn dann nur mit sehr grossem Aufwand zu realisieren, und die Zugabe von Oxidationsschutzmitteln ist ebenfalls nicht immer möglich. Bisher konnte demnach noch kein technisch gangbares Verfahren gefunden werden, das für die Herstellung von ausreichend stabilen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salzen mit einer hohen Reinheit geeignet ist.
- [0005]** Es wurde nun überraschend gefunden, dass sich 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze mit einer hohen chemischen Reinheit und einer ausgezeichneten Stabilität erhalten lassen, indem das entsprechende Salz aus einem polaren Medium nach einer Temperaturbehandlung der Lösung von über 60°C kristallisiert wird. Die so erhaltenen hohen kristallinen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze sind bei Raumtemperatur praktisch unbeschränkt stabil. Sie sind geeignet als Bestandteil oder als Ausgangsmaterial zur Herstellung von Arzneimittelformen oder Nahrungsmittelergänzungstoffen.
- Gegenstand der Erfindung sind demnach kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze. Als 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze zur Kristallisation bevorzugt eingesetzt werden Erdalkalisalze, im Speziellen das Calcium-Salz. Die kristallinen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze weisen eine bisher nie erreichte Reinheit von > 98% zusammen mit einer bisher nie erreichten Stabilität von > 98% in Bezug auf den Ausgangswert nach 6 Monaten Lagerung unter Luft bei 25°C und 60% relativer Luftfeuchtigkeit auf. Die kristallinen 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalze liegen in vier verschiedenen Kristallmodifikationen vor (Typ I, Typ II, Typ III und Typ IV) und zeigen bei Pulverröntgendiffraktions-Messungen scharfe Banden (siehe dazu Figure 1 bis Figure 4 und Table 1 bis Table 4). Ausgewählte 2 Theta-Werte für die verschiedenen Kristallmodifikationen liegen bei 6.5, 13.3, 16.8 und 20.1 (Typ I); bzw. 5.3, 6.9, 18.7 und 21.1 (Typ II); bzw. 6.8, 10.2, 15.4 und 22.5 (Typ III), bzw. 6.6, 15.9, 20.2 und 22.5 (Typ IV). Kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Calciumsalze weisen einen Kristallwassergehalt von mindestens 1 Äquivalent Wasser auf 1 Äquivalent 5-Methyltetrahydrofolsäure auf. So enthält die Modifikation Typ I typischerweise ≥ 3 Äquivalente Wasser, die Modifikation Typ II typischerweise ≤ 2 Äquivalente Wasser und die Modifikationen Typ III und Typ IV typischerweise ≤ 3 Äquivalente Wasser.
- [0006]** 5-Methyl-(6R)-tetrahydrofolsäure-Salze und 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure-Salze können ebenfalls in hoher kristalliner Form erhalten werden.
- [0007]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist das Verfahren zur Herstellung hoher kristalliner Salze der 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass man das entsprechende Salz der 5-Methyltetrahydrofolsäure kristallisiert. Die Kristallisation der 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze erfolgt dabei aus einem polaren Medium nach einer Temperaturbehandlung von über 60°C, speziell über 85°C.
- [0008]** Als polares Medium eignen sich vor allem Wasser oder ein Gemisch aus Wasser und einem mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel wie wasserlöslichen Alkoholen, z. B. Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, Ethylenglycol, einer niedrigen aliphatischen wasserlöslichen Carbonsäure, z. B. Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure oder wasserlöslichen Amiden, z. B. Formamid, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 1-Methylpyrrolidon, 2-Methylpyrrolidon, 2-Piperidinon. Es gibt keine besonderen Einschränkungen bezüglich der Art des eingesetzten Lösungsmittels und des Mischungsverhältnisses, da kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze generell tiefere Löslichkeiten als die entsprechenden amorphen Formen aufweisen.
- [0009]** Die Kristallisation wird bevorzugt aus Lösungen durchgeführt. Die Kristallisation aus einer Suspension ist aber ebenfalls möglich.
- [0010]** Durch weitere Temperaturbehandlungen von über 60°C unter kontrollierter Luftfeuchtigkeit lassen sich die verschiedenen Kristallmodifikationen ineinander umwandeln. So kann Typ I, hergestellt durch eine Kristallisation aus

einem polaren Medium nach einer Temperaturbehandlung von über 60°C, durch Trocknen im Vakuum bei 70°C in Typ II, durch eine Temperaturbehandlung von über 90°C in Typ III und durch eine Temperaturbehandlung von über 95°C in Typ IV umgewandelt werden. Typ II lässt sich durch Behandlung mit Wasser in einer Feuchtekammer bei 90°C wieder in Typ I zurückführen.

5 **[0011]** Die Kristallisation der 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze erfolgt spontan oder durch Animpfen mit dem entsprechenden kristallinen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salz.

[0012] Als Ausgangsmaterial der Kristallisation eignet sich bevorzugt amorphe oder kristallin, reine 5-Methyl-(6S)- oder -(6R)-tetrahydrofolsäure, es kann jedoch auch racemische 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure wie auch angereicherte 5-Methyl-(6S)-, -(6R)- oder -(6R,S)-tetrahydrofolsäure eingesetzt werden.

10 **[0013]** Durch den Einsatz von amorpher oder teilkristalliner optisch reiner 5-Methyltetrahydrofolsäure oder deren Salzen als Ausgangsmaterial für die Kristallisation erhält man durch das beschriebene Verfahren im Wesentlichen kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze von bisher nie erreichter Reinheit zusammen mit einer bisher nie erreichten Stabilität.

[0014] Die Erfindung betrifft auch die Verwendung hoher kristalliner 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze als Bestandteil zur Herstellung von Arzneimitteln oder Nahrungsmittelergänzungstoffen oder zur Herstellung anderer Tetrahydrofolsäure-Derivate, da kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze aufgrund ihrer ausgezeichneten Stabilität in fester Form eine zeitlich praktisch unbeschränkt gleichbleibende sehr gute Qualität behält. Ebenso betrifft die Erfindung auch Zubereitungen enthaltend hohe kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze. Die Herstellung der Zubereitungen erfolgt nach bekannten Verfahren. Die Anwendung erfolgt analog zur Anwendung von bekannten Substanzen aus dem Gebiet der Tetrahydrofolate wie z. B. 5-Formyltetrahydrofolsäure (Leucovorin).

[0015] Die vorliegende Beschreibung ermöglicht es dem Fachmann die Erfindung umfassend anzuwenden. Die folgenden Beispiele sind deshalb nur zur Veranschaulichung möglicher Varianten und daher in keiner Art und Weise einschränkend zu verstehen.

25 **[0016]** Alle in den folgenden Beispielen erwähnten Temperaturen sind in Grad Celsius angegeben. Wo nicht anders bezeichnet sind Gehaltsangaben als Gewichts-% aufgeführt.

Beispiele zur Illustrierung der Erfindung

30 **[0017]** Der in den Beispielen angegebene Gehalt an 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salz wurde jeweils mit HPLC bestimmt und in %-Fläche angegeben, der Wassergehalt wurde über eine Karl-Fischer-Methode bestimmt.

Beispiel 1 [Stabilitäten]

35 **[0018]** Zur Stabilitätsbestimmung der kristallinen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze wurden die Substanzen zusammen mit Vergleichsmustern bei 25°C und 60% relative Feuchte unter Luft gelagert. In periodischen Abständen wurde der verbleibende Gehalt an 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salz gemessen und im Vergleich zum Ausgangswert angegeben.

40

	Belastungszeit in Monaten					
	0	3	6	12	18	88
45 kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure	100%	98.6%	98.7%	99.1%	99.0%	97.8%
amorphes Calcium Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure	100%			84.2%		

50 **[0019]** Kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze sind auch nach längerer Belastungszeit noch sehr hell. Im Gegensatz dazu verfärben sich die amorphen Proben rasch sehr stark.

Beispiel 2 [Pulverröntgendiagramme]

55 **[0020]** Zur Charakterisierung der strukturellen Eigenschaften (Kristallmodifikationen) der kristallinen 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze wurden von diesen Substanzen Pulverröntgendiagramme (Beugungsspektren) aufgenommen.

[0021] Kristalline 5-Methyltetrahydrofolsäure-Salze ergeben gut aufgelöste Spektren mit schmalen Banden und niedrigem Untergrund. Die Spektren weisen auf hohe kristalline Anteile hin.

[0022] Beispiele von Spektren sind in Figure 1 (Typ I), Figure 2 (Typ II), Figure 3 (Typ III) und Figure 4 (Typ IV), bzw. in Table 1 (Typ I), Table 2 (Typ II), Table 3 (Typ III) und Table 4 (Typ IV) ersichtlich. Zum Vergleich wurde von einer amorphen Probe unter analogen Bedingungen ebenfalls ein Spektrum aufgenommen und als Figure 5 (amorph) aufgeführt.

[0023] Im Folgenden sind ausgewählte 2 Theta-Werte für die verschiedenen Kristallmodifikationen des kristallinen 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salzes aufgelistet:

Typ	ausgewählte 2 Theta-Werte
Typ I	6.5, 13.3, 16.8 und 20.1
Typ II	5.3, 6.9, 18.7 und 21.1
Typ III	6.8, 10.2, 15.4 und 22.5
Typ IV	6.6, 15.9, 20.2 und 22.5

Beispiel 3 [Löslichkeiten]

[0024] Die Löslichkeit von kristallinem 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz ist in der folgenden Tabelle aufgezeichnet:

Typ	Löslichkeit bei 20°C in	
	0.9% NaCl	Wasser
Typ I	1.6%	1.1%
Typ II	5.8%	3.8%
Typ III	1.5%	1.0%

Beispiel 4 [amorphes 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz]

[0025] 7.5 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure werden unter Einleitung von N₂ bei Raumtemperatur in 75 ml Wasser eingetragen und mit Natronlauge 30% auf pH 12 eingestellt. Die so erhaltene klare Lösung wird mit Salzsäure 37% auf pH 7.5 eingestellt und mit einer Lösung von 7.15 g Calciumchlorid 6H₂O in 11.7 ml Wasser versetzt. Die entstandene weisse Suspension wird nach 5 Stunden ausrühren bei Raumtemperatur genutscht, mit Wasser überwaschen und bei 45°C im Vakuum getrocknet.

[0026] Man erhält 5.8 g weisses amorphes 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz mit einem Gehalt von 98.0% und einem 6S-Anteil von 99.6%.

[0027] Auch nach der Behandlung dieser Substanz bei 60°C in der Feuchtekammer können weder im Polarisationsmikroskop noch in einer Röntgendiffraktionsmessung kristalline Anteile bestimmt werden.

Beispiel 5 [kristallines 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz]

[0028] 70 g 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure werden in 780 ml Wasser vorgelegt und mit 45.2 g NaOH 30% auf pH 7.5 eingestellt. Die klare leicht rötliche Lösung wird mit einer Lösung von 62.7 g Calciumchlorid • 6H₂O in 140 ml Wasser versetzt, abfiltriert und mit wenig Wasser überwaschen. Das so erhaltene Rohprodukt wird in Wasser suspendiert und bei 90°C in einer Feuchtekammer während 24 Stunden behandelt.

[0029] Man erhält 74.0 g weisses kristallines 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz mit einem Gehalt von 99.1%.

Beispiel 6 [kristallines 5-Methyl-(6R)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz]

[0030] 16.5 g 5-Methyl-(6R)-tetrahydrofolsäure werden in 100 ml Wasser von 92°C und 50 g Calciumchlorid • 6H₂O

vorgelegt. Die klare leicht gelbliche Suspension wird 10 Minuten bei 91°C gerührt, abfiltriert, mit wenig Wasser überwaschen und bei 35°C im Vakuum getrocknet.

[0031] Man erhält 15.4 g hellbeiges kristallines 5-Methyl-(6R)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz mit einem Gehalt von 97.9% und einem Wassergehalt von 7.8%.

5

B Beispiel 7 [Typ I]

[0032] 130 kg Wasser werden vorgelegt und 12.8 kg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingetragen. Mit ca. 9.1 kg NaOH 30% wird der pH-Wert auf 11.6 und dann mit ca. 1.9 kg Salzsäure 37% auf 7.6 eingestellt. Zur klaren Lösung wird eine Suspension enthaltend 0.3 kg Kohle und 0.3 kg Cellflock zugegeben, filtriert und mit 13 l Wasser überwaschen. Das Filtrat wird mit einer Lösung enthaltend 8.3 kg Calciumchlorid \cdot 2H₂O versetzt, auf 90°C erhitzt und 30 Minuten gerührt. Das Produkt wird heiss abfiltriert und mit 2 x 20 kg Wasser überwaschen. Das so erhaltene feuchte Rohprodukt wird in 115 l Wasser aufgeschlämmt, auf 90°C erhitzt, sofort heiss abfiltriert, mit 2 x 20 kg Wasser überwaschen und bei 40°C im Vakuum getrocknet.

[0033] Man erhält 11.6 kg weisses kristallines 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz (Typ I) mit einer Reinheit von 99.0% und einem Wassergehalt von 14.5%.

Beispiel 8 [Typ I]

[0034] 1600 ml Wasser werden vorgelegt und 194 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingetragen. Mit ca. 80 ml NaOH 30% wird der pH-Wert auf 7.0 eingestellt. Zur klaren Lösung wird eine Suspension enthaltend 20 g Kohle und 20 g Cellflock in 190 ml Wasser zugegeben, filtriert und mit Wasser überwaschen. Das Filtrat wird mit einer 950 ml Calciumchlorid-Lösung 5.5 M versetzt, auf 90°C erhitzt und 60 Minuten gerührt. Das Produkt wird heiss abfiltriert und mit Wasser überwaschen und bei 45°C im Vakuum getrocknet.

[0035] Man erhält 156.2 g weisses kristallines 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz (Typ I) mit einer Reinheit von 99.7% und einem 6S-Anteil von 99.9%.

Beispiel 9 [Typ I und Umwandlung in Typ II]

[0036] 554 g Wasser werden vorgelegt und 53.1 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure eingetragen. Mit NaOH 30% wird der pH-Wert auf 7.5 eingestellt. Zu klaren Lösung werden 1.3 g Kohle, 1.3 g Cellflock und 19.5 g Wasser zugegeben. Die Suspension wird filtriert und mit 55 ml Wasser überwaschen. Das Filtrat wird mit einer Lösung von 52.0 g Calciumchlorid \cdot 6H₂O in 84.6 g Wasser versetzt, auf 90°C erhitzt und mit 100 mg kristallinem 5-Methyltetrahydrofolsäure-Calcium-Salz angeimpft. Nach erfolgter Kristallisation wird das Produkt bei 90°C heiss abfiltriert und mit 2 x 103 g Wasser überwaschen. Das so erhaltene feuchte Rohprodukt wird in 480 ml Wasser aufgeschlämmt, auf 90°C erhitzt, sofort heiss abfiltriert, analog oben überwaschen und bei 45°C im Vakuum getrocknet.

[0037] Man erhält 47.5 g weisses kristallines 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz (Typ I) mit einer Reinheit von 98.8% und einem Wassergehalt von 12.2%.

[0038] Durch Trocknen bei 70°C im Vakuum während 30 Minuten kann diese Modifikation Typ I in die Modifikation Typ II mit einem Wassergehalt von 5.0% umgewandelt werden.

Beispiel 10 [Typ III]

[0039] 15.8 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz werden in 140 ml Wasser unter Einleitung von N₂ auf 95°C erhitzt, nach 30 Minuten bei 95°C wird die weisse Suspension heiss genutscht, mit Wasser überwaschen und bei 35°C im Vakuum getrocknet.

[0040] Man erhält 14.0 g weisses kristallines 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz (Typ III) mit einem Gehalt von 98.9% und einem 6S-Anteil von 99.9%.

Beispiel 11 [Typ IV]

[0041] 20.0 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz werden in 180 ml Wasser unter Einleitung von N₂ auf 100°C erhitzt, nach 30 Minuten bei 100°C wird die weisse Suspension heiss genutscht, mit Wasser überwaschen und bei 25°C im Vakuum getrocknet.

[0042] Man erhält 16.9 g weisses kristallines 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calcium-Salz (Typ IV) mit einem Gehalt von 98.3% und einem Wassergehalt von 9.9%.

[0043] Durch Trocknen bei 65°C im Vakuum kann der Wassergehalt dieses Produktes auf 5.5% reduziert werden, ohne dass dabei eine andere Kristallmodifikation erhalten wird.

Tabl 1: Crystalline calcium salt of 5-m thyl-(6S)-tetrahydrofolic acid (Type I)

5

Diffractometer : Transmission
 Monochromator : Curved Ge(111)
 Wavelength : 1.540598 Cu
 Detector : Linear PSD
 Scan Mode : Debye-Scherrer / Moving PSD / Fixed omega
 2Theta scan

! Peak search parameters : Expected halfwidth : .150
 ! Significance level : 2.5
 ! Peak height level : 10

Peaklist [Range 1 : 2Theta = 5.000 34.980 .020 Imax = 765]

	D	2Theta	I(rel)	I(abs)	FWHM	h	k	l
20	13.474630	6.5544	100.0	755	.2200			
	8.979750	9.8420	18.5	140	.1600			
	6.936035	12.7526	20.3	153	.1600			
	6.662427	13.2786	38.3	289	.0800			
	6.497896	13.6164	29.4	222	.1200			
25	6.323596	13.9935	18.8	142	.0200			
	6.148863	14.3933	14.0	106	.0400			
	5.966675	14.8352	15.5	117	.1200			
	5.593548	15.8309	27.5	208	.2200			
	5.368022	16.5006	19.7	149	.1127			
	5.282104	16.7709	42.5	321	.2000			
30	4.977751	17.8044	23.6	178	.1800			
	4.672452	18.9782	32.7	247	.2800			
	4.411916	20.1102	34.8	263	.0800			
	4.257688	20.8467	34.2	258	.2600			
	3.761157	23.6360	13.3	100	.0400			
	3.699455	24.0361	22.3	168	.1400			
35	3.558431	25.0037	14.8	112	.1000			
	3.439070	25.8864	21.0	159	.1400			
	3.272550	27.2283	22.1	167	.2800			
	3.218939	27.6907	17.0	129	.1400			
	3.140884	28.3931	17.2	130	.0800			
	3.013536	29.6198	13.9	105	.1000			
40	2.873482	31.0991	15.1	114	.0200			
	2.782802	32.1395	16.6	125	.0200			
	2.754830	32.4748	20.2	152	.0600			
	2.713309	32.9858	15.4	116	.1127			

45

50

55

Tabl 2: Crystallin calcium salt of 5-methyl-(6S)-t trahydrofolic acid (Type II)

Diffractometer : Transmission
 Mon chromator : Curved Ge(111)
 Wavelength : 1.540598 Cu
 Detector : Linear PSD
 Scan Mode : Debye-Scherrer / Moving PSD / Fixed omega
 2Theta scan

! Peak search parameters : Expected halfwidth : .150
 ! Significance level : 2.5
 ! Peak height level : 10

Peaklist [Range 1 : 2Theta = 5.000 34.980 .020 Imax = 526]

!	D	2Theta	I(rel)	I(abs)	FWHM	h	k	l
20	12.720530	6.9434	100.0	517	.2600			
	8.508053	10.3891	29.4	152	.2400			
	6.631466	13.3409	19.6	101	.1200			
	5.883504	15.0461	71.2	368	.2200			
	5.580025	15.8696	27.8	144	.0800			
	5.010988	17.6854	42.5	220	.1400			
25	4.730443	18.7434	53.6	277	.1400			
	4.215807	21.0561	35.5	184	.0400			
	3.943879	22.5263	38.8	201	.3600			
	3.581969	24.8368	24.8	128	.0200			
	3.493985	25.4726	29.6	153	.0400			
30	3.309171	26.9212	22.7	117	.0200			

Table 3: Crystallin calcium salt of 5-methyl-(6S)-tetrahydrofolic acid (Type III)

Diffractometer : Transmission
 Monochromator : Curved Ge(111)
 Wavelength : 1.540598 Cu
 Detector : Linear PSD
 Scan Mode : Debye-Scherrer / Moving PSD / Fixed omega
 2Theta scan

! Peak search parameters : Expected halfwidth : .150
 ! Significance level : 2.5
 ! Peak height level : 10

Peaklist [Range 1 : 2Theta = 5.000 34.980 .020 I_{max} = 817]

D	2Theta	I(rel)	I(abs)	FWHM	h	k	l
12.933490	6.8289	100.0	786	.1200			
11.036740	8.0043	18.9	149	.0400			
9.945525	8.8842	18.4	145	.1000			
8.877709	9.9554	12.4	98	.0796			
8.640580	10.2293	49.6	390	.1000			
7.873330	11.2292	6.4	50	.1000			
7.144004	12.3799	7.6	59	.0800			
6.948557	12.7295	20.3	159	.1000			
6.659956	13.2835	10.1	80	.0400			
6.466239	13.6834	7.6	60	.0200			
6.305060	14.0349	37.6	296	.1000			
6.154434	14.3802	16.4	129	.0400			
6.057193	14.6123	15.3	121	.0600			
5.920458	14.9517	17.6	139	.1000			
5.738533	15.4285	48.9	385	.1000			
5.530167	16.0136	30.3	238	.1000			
5.322477	16.6428	18.1	143	.0600			
5.245302	16.8894	47.4	372	.0800			
5.154604	17.1888	20.9	164	.0796			
5.038273	17.5888	30.8	242	.1000			
4.980502	17.7945	10.7	84	.0796			
4.759336	18.6286	31.6	248	.1200			
4.702846	18.8544	24.3	191	.0796			
4.575841	19.3827	15.6	122	.0800			
4.478961	19.8061	25.9	204	.1000			
4.377158	20.2716	48.1	378	.1000			
4.309006	20.5957	11.9	93	.0796			
4.242777	20.9207	31.3	246	.0800			
4.051441	21.9207	10.3	81	.0200			
3.940356	22.5467	67.8	533	.1200			
3.782452	23.5010	12.4	98	.0400			
3.609291	24.6458	9.5	75	.0200			
3.523157	25.2582	27.0	212	.2000			
3.460874	25.7205	43.4	341	.0800			
3.408545	26.1223	12.4	98	.0796			
3.341048	26.6596	16.1	127	.2000			
3.273575	27.2196	28.4	223	.1400			
3.188038	27.9645	12.6	99	.0200			
3.160110	28.2168	12.5	98	.0400			
3.103472	28.7427	15.0	118	.0800			
3.052658	29.2317	13.9	109	.0600			
3.017419	29.5808	27.7	218	.1400			
2.970195	30.0621	10.6	83	.1200			
2.921067	30.5800	13.9	109	.0200			
2.899222	30.8161	9.6	76	.0796			
2.870572	31.1314	9.6	75	.0400			
2.830661	31.5817	11.0	86	.0200			
2.758126	32.4349	11.3	89	.0400			
2.733265	32.7382	13.2	104	.0600			
2.695836	33.2058	13.7	108	.0800			
2.660160	33.6643	11.7	92	.1000			
2.609572	34.3369	9.2	72	.0200			

Tabl 4: Crystalline calcium salt of 5-methyl-(6S)-tetrahydro folic acid (Typ IV)

Diffractometer : Transmission
 Monochromator : Curved Ge(111)
 Wavelength : 1.540598 Cu
 Detector : Linear PSD
 Scan Mode : Debye-Scherrer / Moving PSD / Fixed omega
 2Theta scan

! Peak search parameters : Expected halfwidth : .150
 ! Significance level : 2.5
 ! Peak height level : 10

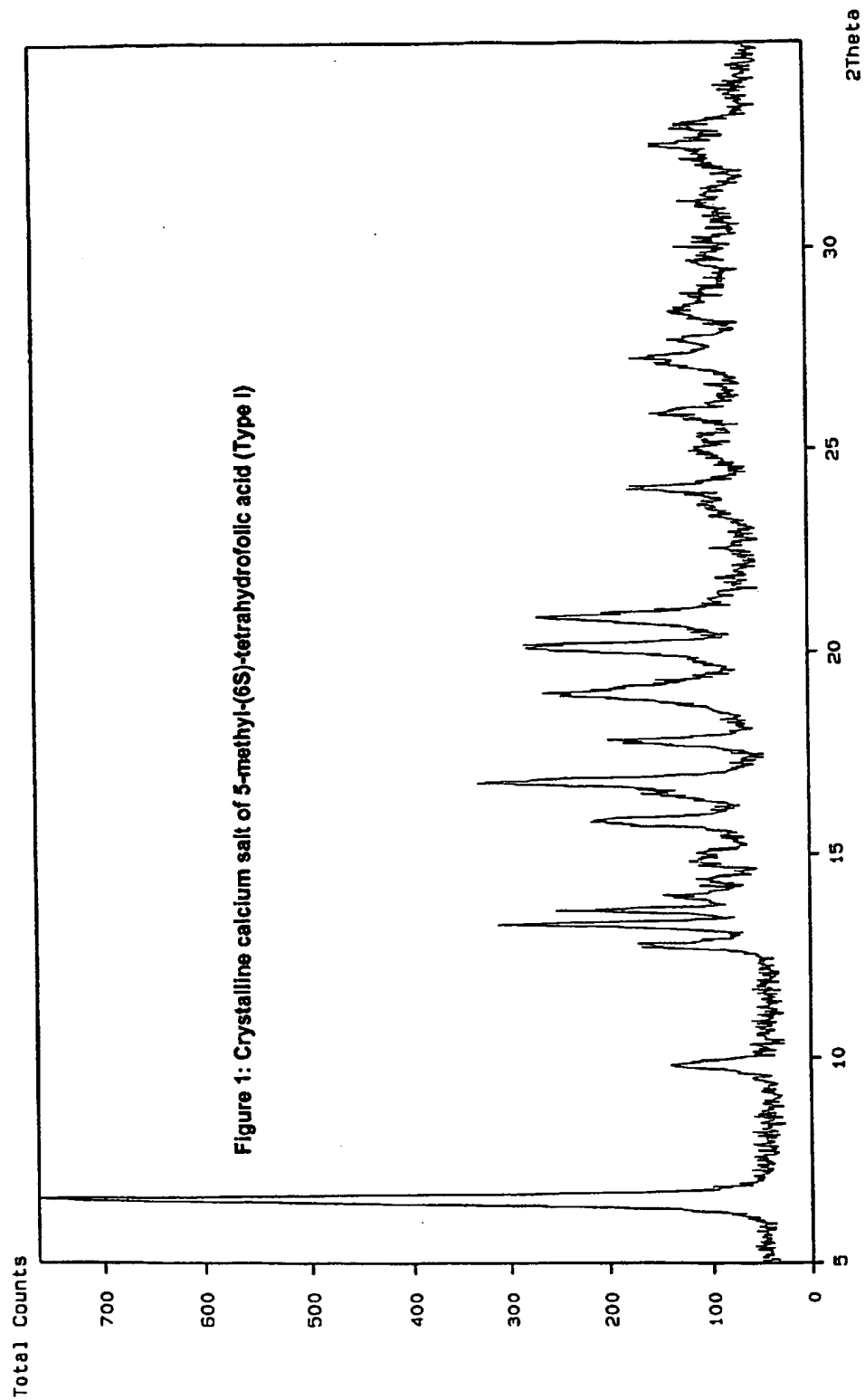
Peaklist [Range 1 : 2Theta = 5.000 34.980 .020 Imax = 473]

	D	2Theta	I(rel)	I(abs)	FWHM	h	k	l
20	13.398610	6.5916	97.7	446	.1600			
	12.930100	6.8307	100.0	457	.0915			
	11.033220	8.0069	19.2	88	.0800			
	9.952926	8.8776	16.7	76	.1200			
	8.912272	9.9167	25.5	116	.1600			
	8.626970	10.2455	48.9	223	.0800			
25	6.931997	12.7600	37.4	171	.1000			
	6.651761	13.3000	39.7	181	.1200			
	6.499623	13.6127	32.8	150	.0800			
	6.309299	14.0254	47.0	215	.1600			
	6.161306	14.3641	25.1	115	.1200			
	5.917463	14.9593	27.0	124	.1000			
30	5.736254	15.4347	49.8	227	.0800			
	5.544314	15.9724	36.7	168	.1600			
	5.255854	16.8553	62.1	284	.2400			
	5.172075	17.1303	29.5	135	.0915			
	5.035719	17.5978	37.0	169	.1200			
	4.978813	17.8006	31.3	143	.0400			
35	4.758441	18.6321	40.7	186	.1000			
	4.688853	18.9112	46.0	210	.0915			
	4.577465	19.3757	29.5	135	.0915			
	4.479376	19.8043	35.5	162	.1000			
	4.383704	20.2410	63.6	290	.1200			
	4.246196	20.9037	59.5	272	.1400			
	4.088125	21.7216	19.7	90	.0200			
40	3.941748	22.5386	62.9	288	.1400			
	3.778991	23.5229	27.9	128	.0400			
	3.696576	24.0551	30.5	139	.1000			
	3.523769	25.2537	35.6	163	.2400			
	3.459683	25.7295	44.7	204	.0800			
	3.338511	26.6803	28.7	131	.0200			
45	3.273450	27.2206	45.5	208	.1000			
	3.135320	28.4446	23.6	108	.0600			
	3.108154	28.6985	25.9	118	.0200			
	3.018687	29.5681	34.4	157	.1400			
	2.923031	30.5589	21.9	100	.0200			
	2.844431	31.4249	18.4	84	.0200			
50	2.749393	32.5408	28.5	130	.1200			
	2.713739	32.9804	25.6	117	.0200			
	2.663207	33.6246	19.6	90	.0600			
	2.613490	34.2838	17.4	80	.0200			

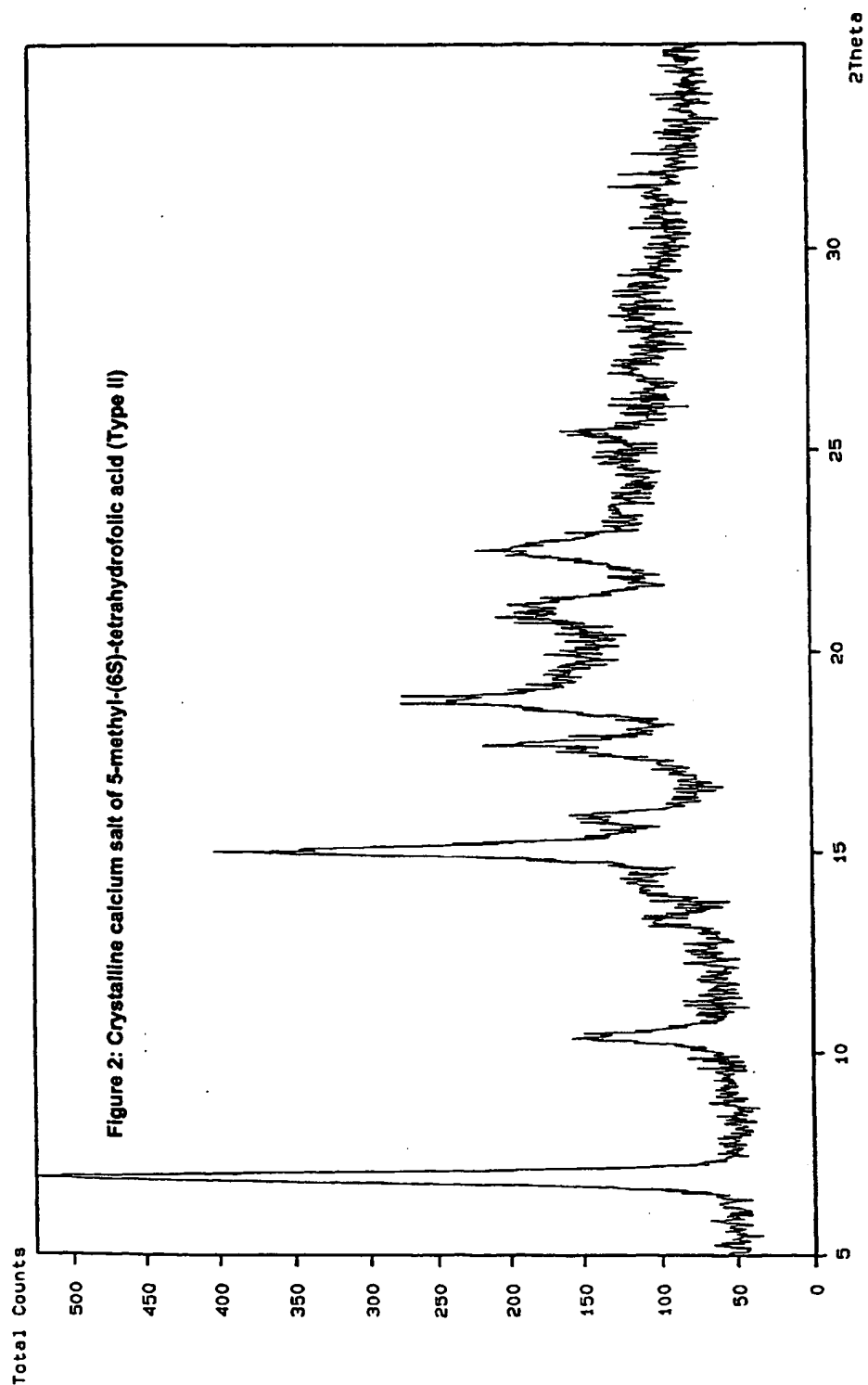
Patentansprüche

1. Kristalline Salze der 5-Methyl-(6R, S)-, -(6S)- und -(6R)-tetrahydrofolsäure.
- 5 2. Kristalline Salze der 5-Methyl-(6S)- und (6R)-tetrahydrofolsäure.
3. Kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)- und -(6R)-tetrahydrofolsäure.
4. Kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure mit 2 Theta-Werten von 6.5, 13.3, 16.8 und 20.1.
- 10 5. Kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure mit 2 Theta-Werten von 5.3, 6.9, 18.7 und 21.1.
6. Kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure mit 2 Theta-Werten von 6.8, 10.2, 15.4 und 22.5.
- 15 7. Kristallines Calcium-Salz der 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure mit 2 Theta-Werten von 6.6, 15.9, 20.2 und 22.5.
8. Verfahren zur Herstellung von kristallinen Salzen der 5-Methyl-(6R,S)-, -(6S)- und 5-Methyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man 5-Methyl-(6R,S)-, -(6S)- oder -(6R)-tetrahydrofolsäure-Salze aus einem polaren Medium nach einer Temperaturbehandlung kristallisiert.
- 20 9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kristallisation nach einer Temperaturbehandlung von über 60°C erfolgt.
10. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kristallisation nach einer Temperaturbehandlung von über 85°C erfolgt.
- 25 11. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kristallisation aus einer Lösung durchgeführt wird.
12. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kristallisation aus einer Suspension durchgeführt wird.
- 30 13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Kristallisation aus Wasser oder einem Gemisch aus Wasser und einem mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel durchgeführt wird.
- 35 14. Verwendung von kristallinen Salzen der 5-Methyl-(6S)- oder -(6R)-tetrahydrofolsäure als Bestandteil zur Herstellung von Arzneimitteln oder als Nahrungsmittelergänzungsmittel.
15. Zubereitungen enthaltend kristalline Salze der 5-Methyl-(6S)- oder -(6R)-tetrahydrofolsäure.

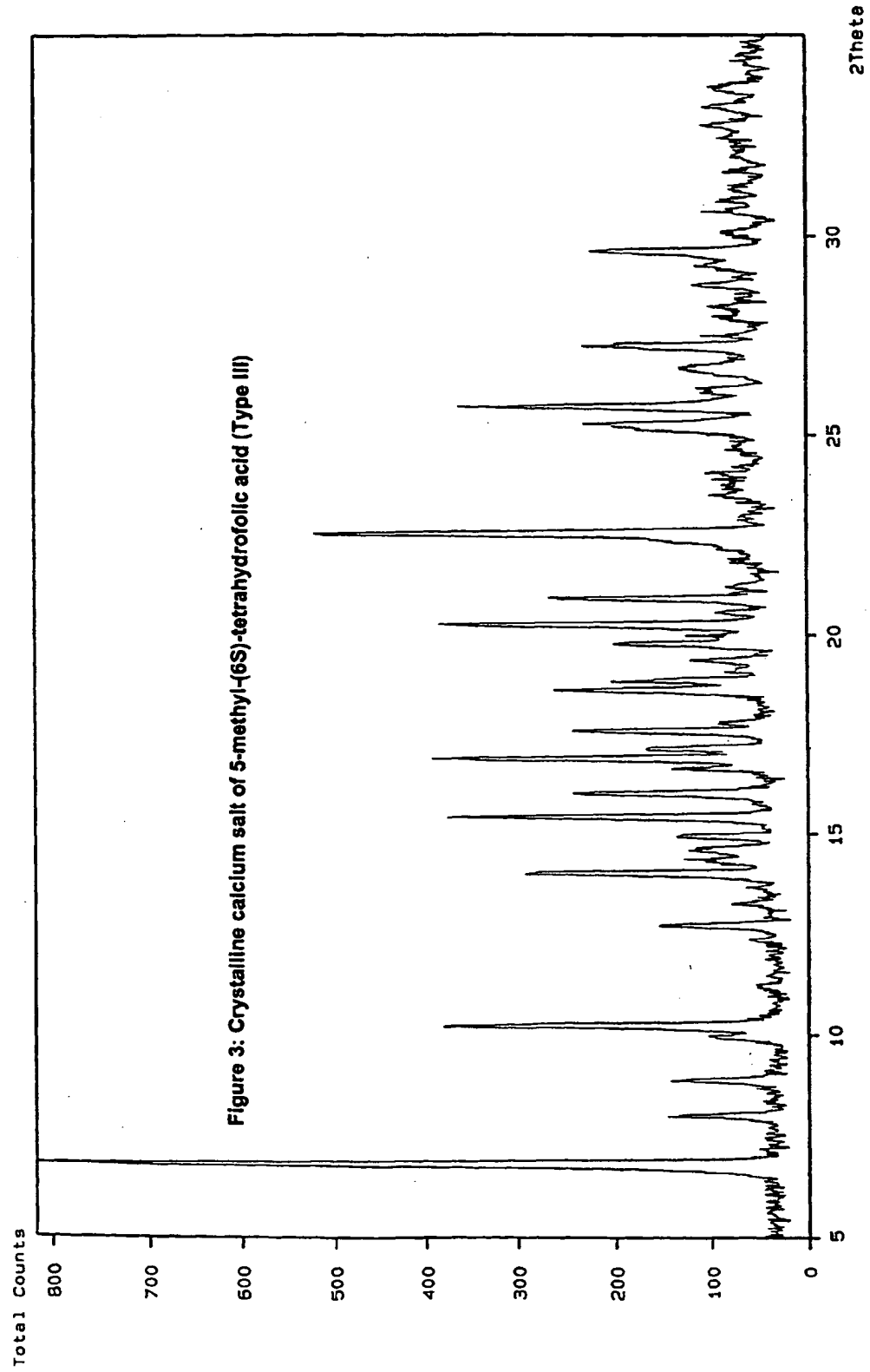
STOE POWDER DIFFRACTION SYSTEM



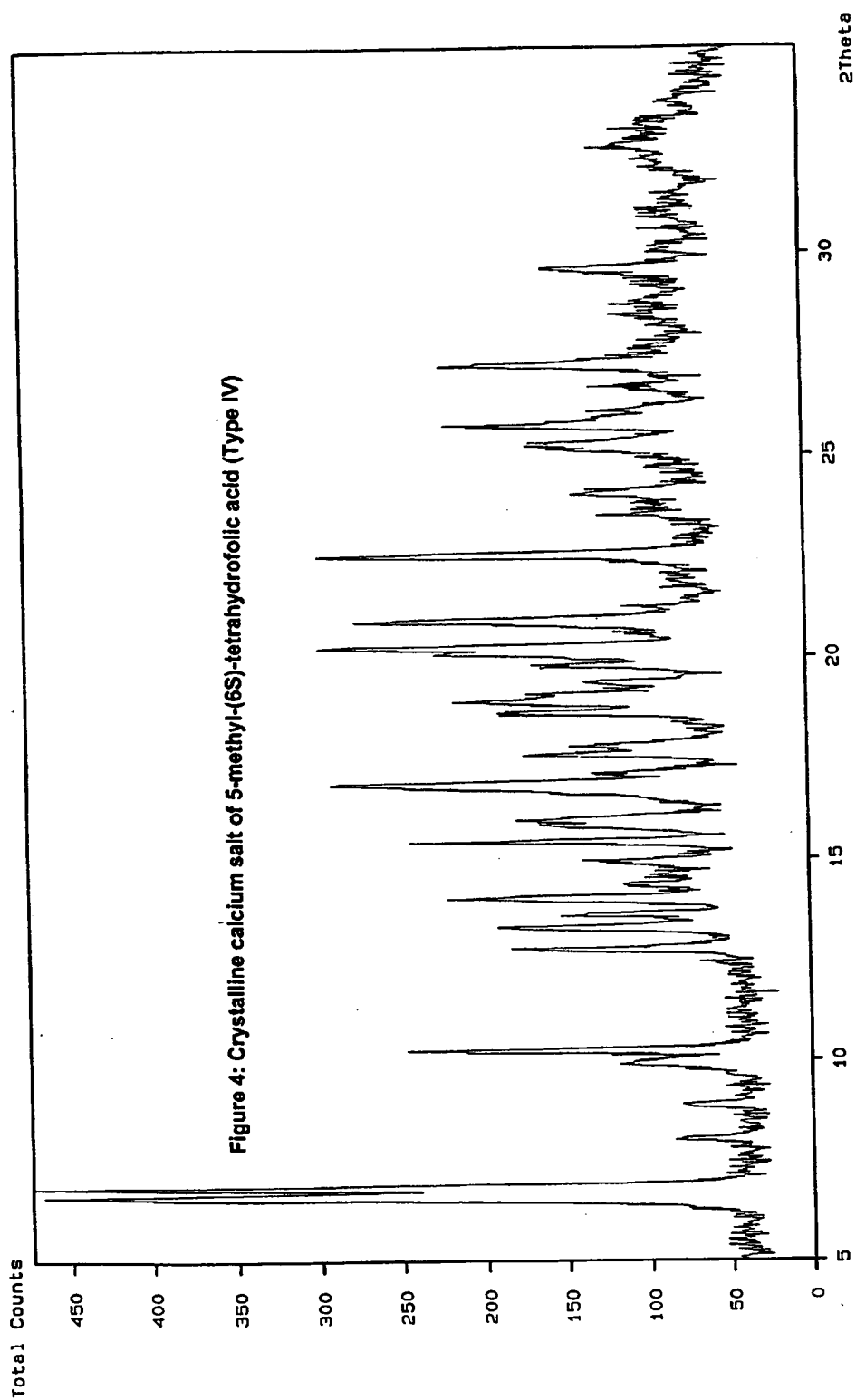
STOE POWDER DIFFRACTION SYSTEM



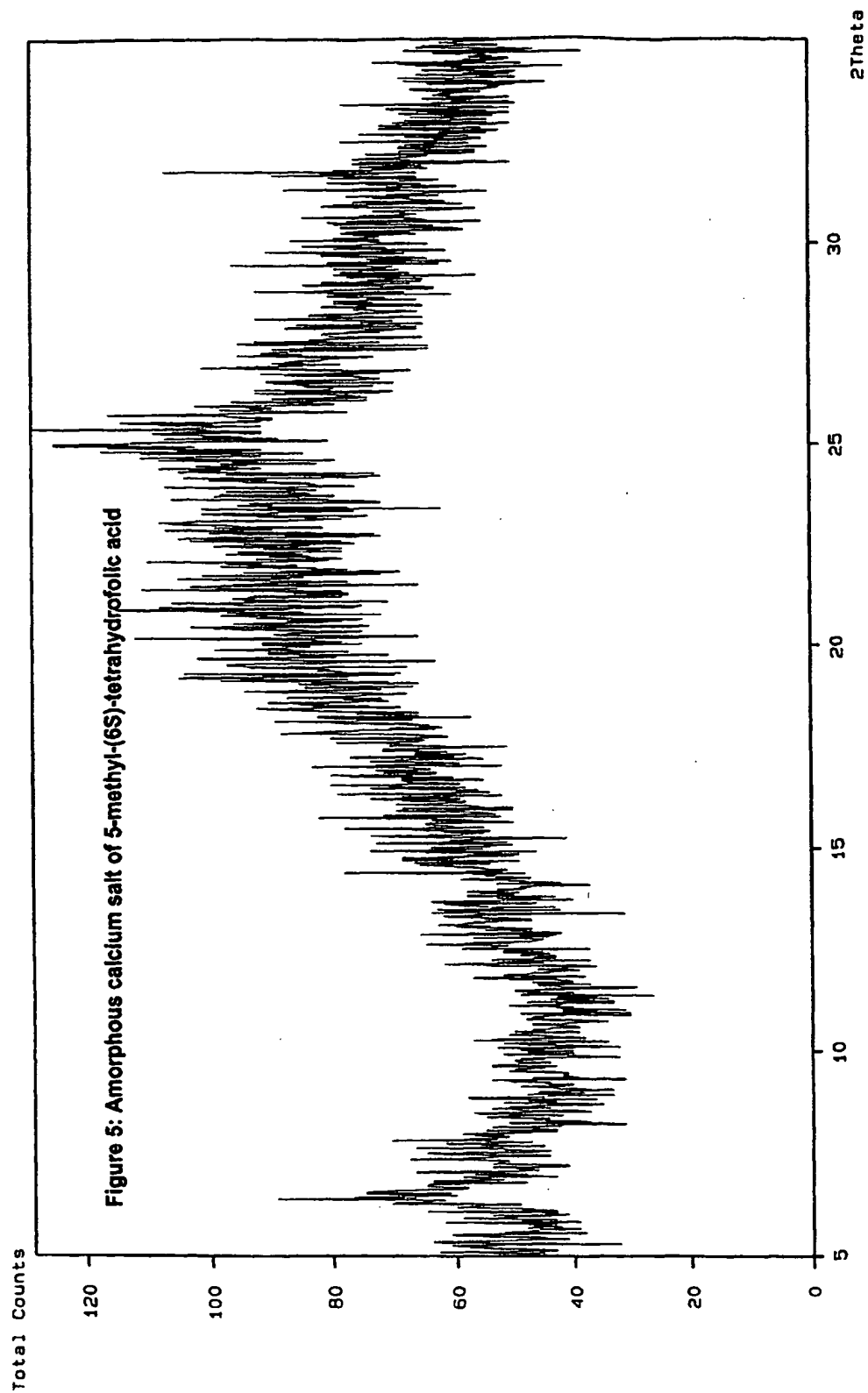
STOE POWDER DIFFRACTION SYSTEM



STOE POWDER DIFFRACTION SYSTEM



STOE POWDER DIFFRACTION SYSTEM





Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 10 7623

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.C1.7)
X	DE 28 07 393 A (BIORESEARCH SAS) 7. September 1978 (1978-09-07) * Seite 11; Ansprüche; Beispiele *	1-15	C07D475/04 A61K31/519 A61P39/02
Y	EP 0 773 221 A (EPROVA AG) 14. Mai 1997 (1997-05-14) * das ganze Dokument *	1-15	
Y	EP 0 682 026 A (EPROVA AG) 15. November 1995 (1995-11-15) * das ganze Dokument *	1-15	
Y	EP 0 539 987 A (SAPEC FINE CHEMICALS) 5. Mai 1993 (1993-05-05) * das ganze Dokument *	1-15	
A	EP 0 535 710 A (SAPEC FINE CHEMICALS) 7. April 1993 (1993-04-07) * das ganze Dokument *	1-15	
A	EP 0 495 204 A (EPROVA AG) 22. Juli 1992 (1992-07-22) * das ganze Dokument *	1-15	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.C1.7)
A	EP 0 455 013 A (SAPEC FINE CHEMICALS) 6. November 1991 (1991-11-06) * das ganze Dokument; Ansprüche *	1-15	C07D A61K A61P
A	EP 0 537 492 A (EPROVA AG) 21. April 1993 (1993-04-21) * das ganze Dokument *	1-15	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 12. Juli 2000	Prüfer Chouly, J
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

EPO FORM 1503 03.92 (P4/C23)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 7623

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

12-07-2000

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 2807393 A	07-09-1978	GB 1572137 A	23-07-1980
		AR 215162 A	14-09-1979
		AT 380020 B	25-03-1986
		AT 90378 A	15-08-1985
		AU 520715 B	25-02-1982
		AU 3343078 A	30-08-1979
		BE 863808 A	29-05-1978
		CA 1093554 A	13-01-1981
		CH 635344 A	31-03-1983
		CZ 7801129 A	15-02-1995
		DD 134099 A	07-02-1979
		DK 76578 A,B,	23-08-1978
		EG 13399 A	31-12-1981
		ES 467153 A	16-11-1978
		FI 780565 A,B,	23-08-1978
		FR 2381047 A	15-09-1978
		FR 2385397 A	27-10-1978
		GR 71704 A	21-06-1983
		HU 179422 B	28-10-1982
		IE 46402 B	01-06-1983
		IL 54052 A	31-07-1981
		IN 149574 A	30-01-1982
		JP 1217414 C	17-07-1984
		JP 53124297 A	30-10-1978
		JP 58031353 B	05-07-1983
		LU 79067 A	27-06-1978
		MX 5288 E	06-06-1983
		NL 7801775 A,B,	24-08-1978
		NO 780594 A,B,	23-08-1978
		NZ 186465 A	08-10-1980
		PL 204747 A	12-03-1979
		PT 67656 A,B	01-03-1978
		SE 437028 B	04-02-1985
		SE 7801973 A	23-08-1978
		SU 747427 A	23-07-1980
		US 5223500 A	29-06-1993
		YU 37978 A	21-01-1983
		ZA 7800837 A	26-09-1979
EP 0773221 A	14-05-1997	CH 689831 A	15-12-1999
		AT 191482 T	15-04-2000
		AU 707443 B	08-07-1999
		AU 7053396 A	15-05-1997
		CA 2187409 A	08-05-1997
		DE 59604878 D	11-05-2000
		HU 9603072 A	28-08-1997

EPO FORM P0481

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 7623

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

12-07-2000

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0773221 A		JP 9169759 A	30-06-1997
		NO 964699 A	09-05-1997
		US 5817659 A	06-10-1998
EP 0682026 A	15-11-1995	CH 686369 A	15-03-1996
		AT 188699 T	15-01-2000
		AU 704363 B	22-04-1999
		AU 1793195 A	16-11-1995
		CA 2148671 A	10-11-1995
		CN 1122337 A	15-05-1996
		DE 59507591 D	17-02-2000
		ES 2144066 T	01-06-2000
		FI 952198 A	10-11-1995
		HU 71612 A	29-01-1996
		JP 8041062 A	13-02-1996
		NO 951796 A	10-11-1995
		ZA 9503673 A	12-01-1996
EP 0539987 A	05-05-1993	CH 682665 A	29-10-1993
EP 0535710 A	07-04-1993	CH 684270 A	15-08-1994
		JP 7070125 A	14-03-1995
		US 5332815 A	26-07-1994
EP 0495204 A	22-07-1992	CH 681303 A	26-02-1993
		AT 123777 T	15-06-1995
		AU 654993 B	01-12-1994
		AU 1025492 A	23-07-1992
		CA 2059103 A,C	17-07-1992
		CN 1063285 A,B	05-08-1992
		DE 59105722 D	20-07-1995
		DK 495204 T	07-08-1995
		ES 2075315 T	01-10-1995
		FI 920180 A	17-07-1992
		HU 60272 A,B	28-08-1992
		IE 72164 B	26-03-1997
		IL 100478 A	12-03-1999
		JP 2010692 C	02-02-1996
		JP 4312586 A	04-11-1992
		JP 7039417 B	01-05-1995
		LV 10083 A,B	10-05-1994
		MX 9200063 A	01-01-1993
		NO 301422 B	27-10-1997
		NZ 241245 A	25-11-1993
		PT 100014 A,B	31-03-1993
		RU 2099340 C	20-12-1997

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 10 7623

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

12-07-2000

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0495204 A		US 5324836 A	28-06-1994
		ZA 9200291 A	30-09-1992
EP 0455013 A	06-11-1991	CH 680731 A	30-10-1992
		AT 124043 T	15-07-1995
		AU 635831 B	01-04-1993
		AU 7429791 A	14-11-1991
		CA 2040397 A	13-10-1991
		CH 680856 A	30-11-1992
		CH 680857 A	30-11-1992
		DE 59105758 D	27-07-1995
		ES 2075247 T	01-10-1995
		FI 911763 A	13-10-1991
		HU 60741 A	28-10-1992
		JP 2525965 B	21-08-1996
		JP 7025876 A	27-01-1995
		MX 25305 A	01-12-1993
		US 5194611 A	16-03-1993
		US 5382581 A	17-01-1995
EP 0537492 A	21-04-1993	CH 682664 A	29-10-1993
		AT 122675 T	15-06-1995
		CA 2078939 A,C	16-04-1993
		DE 59202227 D	22-06-1995
		DK 537492 T	17-07-1995
		ES 2073222 T	01-08-1995
		JP 2011432 C	02-02-1996
		JP 5294968 A	09-11-1993
		JP 7042288 B	10-05-1995
		US 5300505 A	05-04-1994

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

